

APPROFONDIMENTI

Lotta alle tracheofusariosi mediante trattamenti in vivaio

Giovanna Gilardi* - Maria Lodovica Gullino*,** - Angelo Garibaldi*

*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

**Dipartimento di Scienze Agrarie, forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

Introduzione

La difesa delle colture orticole intensive è stata per anni basata soprattutto sull'uso di strategie di lotta chimica. Tuttavia, nell'ultimo decennio l'approccio alla protezione delle colture sta profondamente cambiando, anche grazie all'intenso lavoro di ricerca per lo sviluppo di mezzi di difesa volti a integrare e sostituire i fungicidi di sintesi (Garibaldi *et al.*, 2014). Tra i fattori che hanno contribuito a modificare le strategie di difesa delle colture ortoflorofrutticole possiamo ricordare la crescente sensibilità del consumatore e del produttore verso la protezione dell'ambiente e la sicurezza alimentare, assieme alla spinta indotta dall'introduzione di norme comunitarie (Nuovo Regolamento CE 1107/2009) che hanno portato all'uscita dal mercato di numerosi prodotti e a una maggiore difficoltà a registrarne dei nuovi, con particolari restrizioni all'uso di molecole ad attività fumigante, fattore che complica ulteriormente la difesa dai patogeni tellurici (Colla *et al.*, 2012). Inoltre, la Direttiva europea 2009/128/CE sull'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari prevede l'obbligo, a partire dal 1° gennaio 2014, per tutti gli utilizzatori professionali, di attuare i principi generali della difesa integrata imponendo una severa riduzione all'impiego di prodotti chimici di sintesi. La lotta ai patogeni delle colture con mezzi non convenzionali richiede interventi di difesa preventivi anche se può fornire risultati contrastanti in termini di efficacia in quanto l'effetto dei differenti prodotti è influenzata da diversi fattori quali il genotipo e lo stadio di sviluppo fenologico della pianta e le condizioni ambientali (Walters e Fountaine, 2009; Walters *et al.*, 2013).

A livello della rizosfera, ossia della porzione di suolo che circonda le radici delle piante, si instaurano, inoltre, complesse interazioni tra la pianta e i microrganismi presenti in grado di interferire sul processo infettivo di patogeni tellurici e nell'espressione della gravità dei sintomi (Raaijmakers *et al.*, 2009). A tale riguardo, l'importanza della flora microbica quale fattore primario di contenimento di patogeni del terreno è studiata con interesse crescente in diversi agrosistemi (Postma *et al.*, 2008; Van Bruggen e Semenov, 2015).

Molti sono i problemi che interessano proprio le colture orticole, in particolare quelle condotte in serra, caratterizzate da cicli colturali brevi, successioni molto strette ed elevata pressione causata da parassiti animali e vegetali. Come si cercherà di dimostrare in questa nota, diversi sono i mezzi di lotta a disposizione per mettere in atto misure di difesa efficaci.

In questo lavoro prenderemo in considerazione strategie di difesa non convenzionali, tenendo conto in modo particolare della già citata e recente evoluzione del quadro normativo che presuppone l'impiego ridotto di mezzi chimici di sintesi e considerando che l'efficacia di strategie di lotta non convenzionali o, comunque, alternative a quelle tradizionali, è spesso legata al miglioramento delle tecniche di applicazione. Vengono presentati alcuni casi studio relativi all'effetto di diversi prodotti, molti dei quali noti per la capacità di indurre resistenza in diversi ospiti, applicati in trattamenti preventivi in vivaio su giovani piante di lattuga, rucola e pomodoro per contrastare gli attacchi di diversi agenti di tracheofusariosi. I risultati presentati riguardano prove svolte in condizioni controllate, in presenza di inoculazione artificiale con patogeni selezionati, o in presenza di infestazione naturale operando a livello commerciale in aziende agricole.

Nelle diverse prove sono stati usati induttori di resistenza (acibenzolar-S-metile e fosfito di potassio), microrganismi agenti di lotta biologica (*Fusarium oxysporum* antagonisti, *Pseudomonas*, *Bacillus* spp., *Trichoderma* spp., complessi microbici e *Glomus*), e ammendanti compostati, applicati in modo preventivo a partire dalla condizione di vivaio. Il fungicida azoxystrobin è stato utilizzato come riferimento chimico.

Induttori di resistenza

L'induzione di resistenza nei confronti di patogeni mediante l'impiego di sostanze naturali o di sintesi è una delle strategie maggiormente investigate per il contenimento delle malattie delle piante in differenti sistemi colturali e diversi sono i prodotti induttori di resistenza nei confronti di funghi, batteri o virus in numerose specie orticole (Sticher *et al.*, 1997; Da Rocha e Hammerschmidt, 2005).

La resistenza sistemica indotta comprende un insieme complesso di reazioni della pianta, spesso non completamente conosciute, che può essere legato all'uso di agenti biotici (microrganismi antagonisti e non, funghi micorrizici) o abiotici (stress di natura fisica, prodotti naturali o chimici di sintesi) e che ha come effetto l'innalzamento delle capacità di difesa dell'ospite nei confronti dei patogeni e determina la protezione sistemica dell'intero individuo (Kessmann *et al.*, 1994; Sticher *et al.*, 1997; Oostendorp *et al.* 2001; Walters e Fountaine, 2009).

Sali e prodotti naturali

È stato dimostrato che diversi sali inorganici (silicati, fosfati

e fosfiti, bicarbonati, cloruri...) possono essere adottati con efficacia per il contenimento di diversi patogeni fungini e batterici delle colture ortoflorofrutticole (Deliopoulos *et al.*, 2010).

I fosfiti sono impiegati a partire dal 1970 per il contenimento di diverse specie di *Phytophthora* in differenti patosistemi (Coffey e Joseph, 1985), dimostrando una buona efficacia anche nei confronti di altri patogeni fungini e batteri tra cui *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* e *Erwinia carotovora* (Lobato *et al.*, 2008; 2011). La capacità dei fosfiti di essere traslocati in modo sistemico nelle piante per via xilematica o floematica influenza la scelta della modalità di applicazione che può essere attuata attraverso trattamenti fogliari o al terreno (Ouimette e Coffey 1990). Oggi l'attenzione verso questi prodotti è rivolta anche alla valutazione dell'influenza del tipo di applicazione, dell'effetto della formulazione e della dose di impiego (Gómez-Merino e Trejo-Téllez, 2015; Ronaldo *et al.*, 2017). Numerose prove sperimentali hanno dimostrato la possibilità di contenere in modo efficace i marciumi basali causati da *Phytophthora nicotianae* e *P. capsici* rispettivamente su pomodoro e su zuccchino mediante tre trattamenti effettuati in vivaio a partire dalle prime foglie vere di giovani piante di pomodoro (Gilardi *et al.*, 2014 b; 2015).

L'acibenzolar-S-metile è un prodotto registrato da anni per alcune colture, con una buona efficacia nei confronti di patogeni tellurici e fogliari di diverse colture (Walters *et al.*, 2013; Mandal *et al.*, 2009). Tale sostanza oggi riscuote un crescente interesse anche per numerose altre specie, soprattutto minori. Elmer (2006) ha evidenziato una buona persistenza della protezione del ciclamino dagli attacchi di *F. oxysporum* f. sp. *cyclaminis* utilizzando, in presenza di inoculazione artificiale con il patogeno, acibenzolar-S-metile alle concentrazioni di 50 µg/l. Lo stesso autore ha, tuttavia, osservato un effetto negativo di acibenzolar-S-metile sullo sviluppo delle piante, senza peraltro rilevare danni di tipo estetico alla coltura.

L'effetto dell'aggiunta del silicato di potassio (Si) alla soluzione nutritizia (100 mg/l) è stato valutato in un sistema fuorisuolo a ciclo chiuso sul patosistema pomodoro-*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. In presenza di soluzioni nutritizie e differenti conducibilità elettriche (EC1=1,5-2,0 mS cm⁻¹; EC2=3,9-4,0 mS cm⁻¹; EC3 5,0-5,5 mS cm⁻¹) e in presenza o assenza di trattamenti con silicato di potassio, la gravità dei sintomi di tracheofusariosi su pomodoro (cv Cuore di bue) è stata ridotta in modo significativo rispetto al testimone del 47-56% (EC1 + Si), del 31 -37% (EC2 + Si) e 51-70% (EC3 + Si), mentre le differenti conducibilità elettriche saggate hanno avuto un effetto parziale sulla gravità dei sintomi (Gilardi *et al.*, 2014 c; Gullino *et al.*, 2015).

Tra i prodotti di origine naturale grande interesse è rivolto all'effetto antimicotico e antibatterico degli estratti da piante officinali: tra questi l'olio essenziale di timo risulta essere il più promettente per il contenimento di diversi patogeni tellurici (Pawar e Thaker, 2007; Schmitt *et al.*, 2009; Amein *et al.*, 2011; Gullino *et al.*, 2014 b). Gli oli essenziali di basilico, cumino e geranio, utilizzati per trattamenti delle sementi, hanno dimostrato di contenere *in vitro* la contaminazione da diverse specie di *Fusarium* (tra cui *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. dimerum*, *F. equiseti* e *F. lateritium*), mentre valutazioni condotte *in vivo* su cumino utilizzando olio essenziale di basilico,

cumino e geranio, hanno dimostrato interessanti effetti di contenimento delle diverse specie di *Fusarium* spp. in serra e in campo, sia sullo sviluppo delle piante (Hashem *et al.*, 2010). Da studi da noi condotti in vivaio, gli oli essenziali di timo e santoreggia, applicati in trattamenti di concia umida a semente di lattuga artificialmente inoculata con le clamidospore di *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* alla concentrazione di 0.1% e 1%, hanno ridotto rispettivamente del 48% e dell'83% la diffusione degli attacchi di questo patogeno (Lopez *et al.*, 2014).

La repressività del terreno e dei substrati

Anche lo sfruttamento di fenomeni di repressività del terreno e dei substrati nei confronti di parassiti tellurici rappresenta un'interessante strategia di difesa per molte colture. In questi terreni e/o substrati, segnalati e studiati da anni in diversi paesi, non si osserva lo sviluppo del patogeno oppure la comparsa della malattia o, comunque, non si riscontrano gravi attacchi, nonostante il patogeno sia naturalmente presente o sia introdotto artificialmente. Van Bruggen e Semenov (2015) hanno studiato la relazione tra la repressività di un terreno ai patogeni tellurici e il sistema culturale di tipo intensivo ed estensivo in agricoltura convenzionale, evidenziando un ampio numero di caratteristiche chimiche, fisiche e microbiologiche collegate alla sanità del terreno repressivo. Tra i substrati repressivi crescente attenzione è rivolta agli ammendanti compostati, studiati da tempo per le potenzialità dimostrate nel contenimento di *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* spp., *Verticillium dahliae*, *Pythium* spp., e *Fusarium* spp., anche se con risultati diversi (Hoitink e Fahy, 1986; Bonamomi *et al.* 2007; Hadar e Papadopoulos, 2012; Pugliese *et al.*, 2015). Tuttavia, sebbene molti studi abbiano riportato un effetto repressivo degli ammendanti compostati organici nei confronti di diversi patogeni tellurici, i compost sono attualmente ancora scarsamente utilizzati come substrati di coltivazione (Pugliese *et al.*, 2015), mentre in generale vengono utilizzati come additivi. In quest'ottica, diversi compost sono aggiunti ai substrati di coltivazione utilizzati nelle coltivazioni senza suolo (Garibaldi *et al.*, 2003; Postma *et al.*, 2010). Ad esempio la tracheofusariosi del pomodoro in fuorisuolo è stata ridotta dal 57 al 68% mediante l'arricchimento del substrato a base di torba e perlite (50:50 v/v) con un ammendante compostato verde (Ant's Compost V, AgriNewTech srl, Torino) alla concentrazione di 2 g/l di substrato (Gilardi *et al.*, 2015). Gli ammendanti compostati possono trovare impiego soprattutto nel settore vivaistico, come di seguito evidenziato in specifici casi studio.

Microrganismi

Purtroppo non sono ancora molti i microrganismi registrati. Tra i pochi mezzi biologici disponibili, attivi contro patogeni tellurici agenti di tracheofusariosi, si citano forme saprofite di *Fusarium*, *Pseudomonas* e *Bacillus* spp. (Hoitink e Locke, 2012). Una crescente attenzione è rivolta alla selezione di microrganismi da substrati repressivi ottenuti da sistemi fuori suolo o da substrati repressivi o isolati da ammendanti compostati (Bonamomi *et al.*, 2007; Pugliese *et al.*, 2008; 2012), valutandone l'efficacia in presenza di infestazione artificiale del terreno e con diverse tipologie di applicazione. Bonamomi *et al.* (2010) hanno documentato l'effetto di diversi ammendanti organici analizzando 252 lavori scientifici elaborando le informazioni inerenti

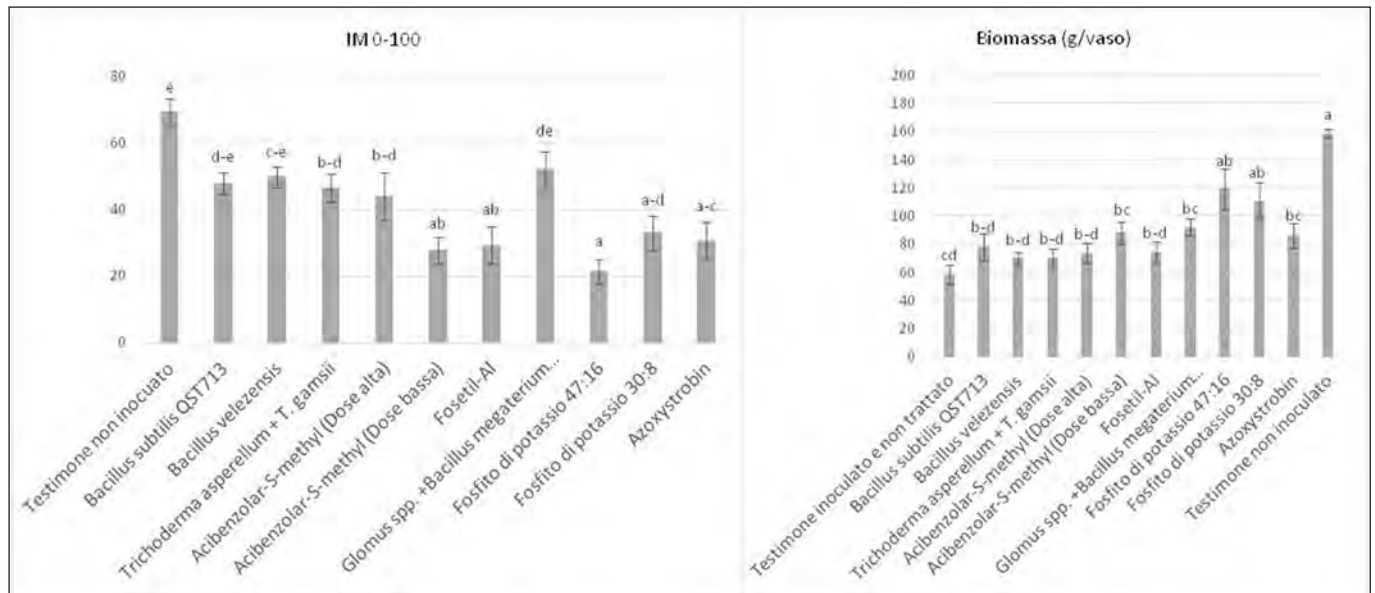


Figura 1 - Effetto di quattro trattamenti in vivaio sulla tracheofusariosi della lattuga (cv Crispilla). Dati espressi come indice di malattia (0-100) e biomassa (g/vaso) alla fine delle prove rispetto ad un trattamento con azoxystrobin (da Gilardi *et al.*, 2016 a).

Figure 1 - Effect of four tray-treatments on the *Fusarium* wilt of lettuce (cv. Crispilla). The data are expressed as DI (0-100) and fresh weight (g/pot) at the end of the trials and compared with one treatment with azoxystrobin (from Gilardi *et al.*, 2016 a).

l'efficacia nei confronti di differenti patogeni tellurici, valutandone l'effetto repressivo e individuando possibili indicatori di tale fenomeno tra i parametri chimici, fisici e microbiologici di diversi suoli. Nel caso degli studi da noi condotti per valutare l'effetto di diversi microrganismi nel contenimento dell'agente della tracheofusariosi della lattuga sono state studiate applicazioni mediante immersione dei semi (Gullino *et al.*, 2014 b), o delle piante in pre-trapianto in sospensioni liquide di antagonisti selezionati (Gilardi *et al.*, 2007) e l'impiego di sospensioni liquide di diversi microrganismi in trattamenti preventivi in vivaio (Gilardi *et al.*, 2016 a). I diversi metodi di applicazione sono rivolti a favorire la colonizzazione radicale delle piante da parte di alcuni batteri e funghi tra cui diverse specie di *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacteria*, *Aspergillus* e *Trichoderma* (Hoitink e Locke, 2012; Eljounaidi *et al.*, 2016). In alcuni casi è da considerare una possibile diversa risposta della pianta in funzione della cultivar (Bouhmouch *et al.*, 2005; Maisonneuve *et al.*, 2013). Tra i diversi microrganismi presi in considerazione, le *Pseudomonas* fluorescenti sono molto studiate per le applicazioni come mezzi biologici in sistemi agricoli sia per l'efficacia nella prevenzione delle infezioni causate da patogeni fungini sia perchè in generale esse promuovono un migliore sviluppo delle piante (Kloepper *et al.*, 1980; Mayak *et al.*, 2004; Hass e Defago, 2005; Clematis *et al.*, 2008). L'arricchimento del substrato di coltivazione con *Pseudomonas* o l'aggiunta di tali microrganismi alla soluzione nutritizia in un sistema sperimentale in fuorisuolo ha fornito un parziale effetto di contenimento dell'agente della tracheofusariosi del pomodoro (Gilardi *et al.*, 2014 c). Tali batteri, inoltre, hanno un ruolo positivo anche nel favorire la tolleranza della pianta alla elevata salinità (Egamberdieva *et al.*, 2013). Nel caso della tracheofusariosi della rucola, invece, i batteri appartenenti ai generi *Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Serratia* ottenuti da substrati repressivi, applicati mediante immersione radicale di piante di tale specie ($10^7 - 10^8$ cellule/ml di

acqua) o per bagnatura del terreno ($10^8 - 10^9$ cellule/ml di terreno), hanno ridotto significativamente l'incidenza della tracheofusariosi con una protezione che ha raggiunto anche l'80% (Srinivasan *et al.*, 2012). Il metodo di applicazione e il numero di trattamenti assume un ruolo importante nell'influenzare l'efficacia dei diversi microrganismi nei confronti dei patogeni tellurici. Srinivasan *et al.* (2009) hanno evidenziato come diverse *Pseudomonas* ottenute da substrato repressivo in fuorisuolo nei confronti di *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* mostrano una differente efficacia nei confronti della tracheofusariosi del pomodoro a seconda del metodo di applicazione, della concentrazione d'impiego e frequenza delle applicazioni, con i migliori risultati ottenuti impiegando *P. putida* FC-6B a 10^8 cellule/ml, o a concentrazione inferiore di 10^7 cellule/ml ma con almeno tre applicazioni. Un aumento delle *Pseudomonas* e una diminuzione quantitativa della popolazione di *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* sono stati osservati in un terreno torboso e in uno sabbioso-argilloso addizionati con un compost verde, dopo due cicli di coltivazione consecutivi della lattuga. In tali terreni in cui il compost riduceva dal 49 al 67% gli attacchi del patogeno, veniva osservato anche un positivo effetto sullo sviluppo della lattuga con un'efficacia prolungata nel tempo (Gilardi *et al.*, 2016 b). L'aumento della concentrazione di *Pseudomonas* spp. nel terreno è, infatti, frequentemente associata a fenomeni di repressività dei terreni con diversi esempi nei confronti di diversi agenti di tracheofusariosi tra i quali *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (Gamliel e Katan, 1993; Clematis *et al.*, 2008). Tuttavia non sempre è emersa una positiva correlazione tra la concentrazione in *Pseudomonas* e il fenomeno di repressività (Bonamomi *et al.*, 2010).

Casi studio

Tracheofusariosi della lattuga

Fusarium oxysporum f. sp. *lactucae*, agente della

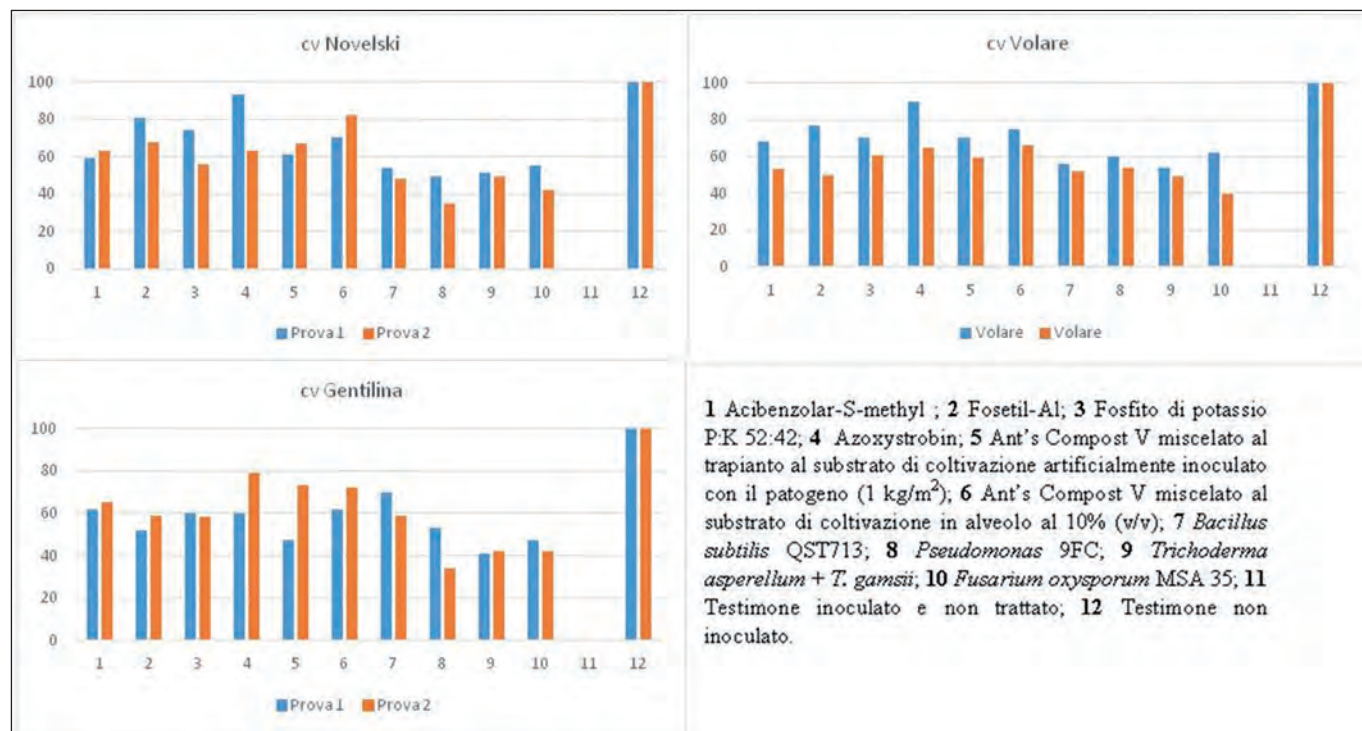


Figura 2 - Effetto di quattro trattamenti in vivaio nei confronti della tracheofusariosi della lattuga coltivata in substrato artificialmente infestato con *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*. I dati sono espressi come % di riduzione della gravità dei sintomi rispetto al testimone inoculato e non trattato al termine di due prove in serra impiegando le cvs Volare, Novelski e Gentilina.

Figure 2 - Effect of nursery treatments on *Fusarium* wilt on cvs. Volare, Novelski and Gentilina grown in a peat substrate artificially infested with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*. Data are expressed as disease severity reduction (%) compared to the inoculated and untreated control at the end of two greenhouse trials.

tracheofusariosi della lattuga, è un patogeno in continua diffusione in diversi areali di coltivazione della lattuga, con i più recenti ritrovamenti in Olanda (Gilardi *et al.*, 2017 b), Francia (Gilardi *et al.*, 2017 a), Belgio (Monica Höfte, comunicazione personale) e Inghilterra (John Clarkson, comunicazione personale). Tra le cause della diffusione del patogeno in aree geografiche diverse vi è l'impiego di seme contaminato (Gullino *et al.*, 2014 a). L'uso di materiale genetico tollerante è attualmente una pratica utilizzata presso le aziende interessate da questo problema fitopatologico, anche se presuppone la conoscenza precisa delle razze fisiologiche presenti nelle singole aziende (Matheron e Gullino, 2012; Gilardi *et al.*, 2014 a). L'uso della lotta genetica è complicata dalla recente comparsa della quarta razza del patogeno in Europa (Gilardi *et al.*, 2017 b), mentre la razza 1 del patogeno è nota in Italia ed è la razza più diffusa a livello mondiale e le razze 2 e 3 sono limitate al Giappone e Taiwan (Matheron e Gullino, 2012). Tuttavia, non sempre è possibile l'uso della lotta genetica, anche perché per alcuni settori di interesse per il mercato, come ad esempio quello della tipologia cappuccina, non sono note cultivar resistenti alle diverse razze del patogeno (Gilardi *et al.*, 2014 a).

Considerandol'interesse crescente dell'uso di microrganismi e, comunque, di misure di lotta non chimiche sono state effettuate una serie di prove per saggiare l'effetto di diversi prodotti (microrganismi, sali o induttori di resistenza...) applicati in vivaio in 3 o 4 trattamenti preventivi effettuati su piantine di lattuga a partire dallo stadio di seconda foglia vera. In presenza di una gravità medio-elevata della tracheofusariosi della lattuga cv Crispilla suscettibile alla razza 1 del patogeno (gravità dei sintomi nel testimone

non trattato del 65,6-69,2%), è stato evidenziato un effetto parziale dei prodotti a base di microrganismi *Bacillus* spp. e *Trichoderma* (riduzione degli attacchi dal 47 al 49%) e del complesso microbico a base di micorrize *Glomus* e *Trichoderma* spp. (riduzione degli attacchi dal 40 al 52%), e di un certo interesse è risultato, invece, l'effetto dell'acibenzolar-S-metile, applicato a 0,025 g/litro, e dei fosfiti di potassio (2,5 g/litro) che hanno ridotto la gravità dei sintomi rispettivamente dal 56 al 58% e dal 52 al 69%, mostrando risultati statisticamente simili a quelli forniti da un'applicazione di azoxystrobin, che è stato utilizzato come riferimento chimico (riduzione della gravità dei sintomi dal 55 al 59% (Figure 1 e 2). L'impiego di tali prodotti è stato positivo anche considerando la biomassa vegetale pesata a fine prova (Figura 2). In una seconda serie di prove, i trattamenti preventivi in vivaio a base di acibenzolar-S-metile (0,025 g/litro), di fosfiti di potassio e fosetil-Al e di microrganismi (*Bacillus subtilis* QST713; *Pseudomonas* 9FC; *Trichoderma asperellum* + *T. gamsii*; *Fusarium oxysporum* MSA 35) sono stati valutati su cultivar di lattuga con differente suscettibilità all'agente della tracheofusariosi: cv Volare (moderatamente tollerante), Novelski (mediamente suscettibile) o cv Gentilina (suscettibile). In tali prove è stato impiegato anche il compost ottenuto dalla potatura verde urbana (Ant's Compost V) applicato al 10% (v/v) al substrato di coltivazione in alveolo oppure miscelato al substrato di coltivazione (1kg/m²) in pre-trapianto (Figura 2). In generale l'effetto dei diversi microrganismi è risultato migliore nel caso delle cultivar moderatamente tolleranti e mediamente suscettibili al patogeno, fornendo il migliore effetto con quattro applicazioni di *B. subtilis* QST713 (riduzione della gravità dei sintomi dal 54 al 60%

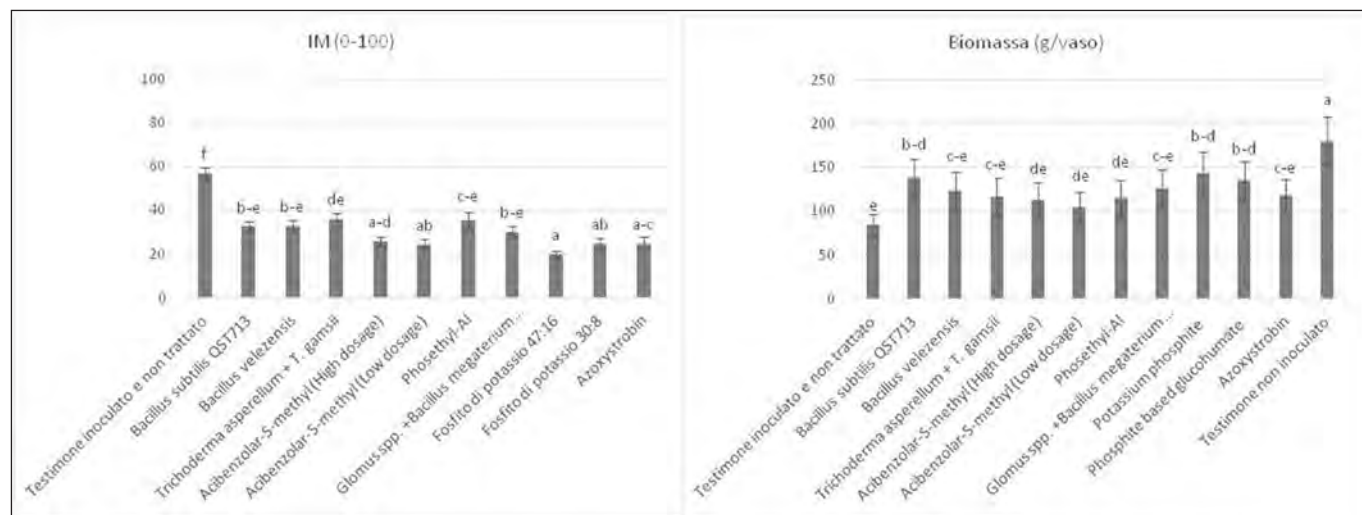


Figura 3 - Effetto di quattro trattamenti in vivaio sulla tracheofusariosi della rucola coltivata (cv Coltivata). Dati espressi come indice di malattia (IM 0-100) e come biomassa (g/vaso) alla fine delle prove rispetto ad un trattamento con azoxystrobin (da Gilardi *et al.*, 2016 a).
 Figure 3 - Effect of four tray-treatments on the *Fusarium* wilt of cultivated rocket (cv. Coltivata). The data are expressed as disease index (0-100) and fresh weight (g/pot) at the end of the trials and compared with one treatment with azoxystrobin (from Gilardi *et al.*, 2016 a).

nel caso della cv Volare e dal 59 al 70% sulla cv Novelski). L'acibenzolar-S-metile e i prodotti a base di fosfiti hanno confermato una riduzione dei sintomi superiore al 55% indipendentemente dalla cultivar impiegata. Di notevole interesse è risultato l'effetto fornito dall'arricchimento del substrato di coltivazione con compost, sia applicato in miscela al substrato di coltivazione in alveolo sia miscelato in pre-trapianto, con riduzioni della gravità dei sintomi dal 59 al 70% sulla cv Volare, dal 61 al 82% sulla cv Novelski e dal 47 al 72% sulla cv Gentilina, con risultati statisticamente simili a quelli forniti da un'applicazione di azoxystrobin (Figura 2). Questi trattamenti hanno fornito un positivo effetto anche in termini di biomassa vegetale prodotta (Figura 1).

Tracheofusariosi della rucola

La tracheofusariosi della rucola coltivata e selvatica è stata osservata per la prima volta al mondo in alcune aziende italiane specializzate nella produzione di orticole di quarta gamma dove queste specie ritornano sullo stesso terreno con 3-5 cicli di coltivazione all'anno (Gullino *et al.*, 2004). A causare questa tracheofusariosi sono le *formae speciales* *F. oxysporum* ff. ssp. *raphani* e *conglutinans* in grado di infettare la rucola coltivata, quella selvatica e la *Valerianella olitoria* (Gullino *et al.*, 2004; Garibaldi e Gullino, 2010). La patogenicità e l'analisi filogenetica studiate impiegando diversi isolati di *Fusarium oxysporum* provenienti dagli areali di coltivazione di rucola e valerianella hanno inoltre evidenziato una marcata variabilità genetica tra i diversi *F. oxysporum* ottenuti da rucola (Srinivasan *et al.*, 2012). Nonostante l'intensa ricerca di materiale genetico resistente a questa tracheofusariosi, la situazione attuale non permette di considerare la lotta genetica come possibile soluzione del problema. Si guarda con ottimismo all'uso di cultivar tolleranti e rispondenti alle esigenze del consumatore combinate con microrganismi antagonisti o con substrati repressivi, come emerso dai risultati di prove condotte in presenza di infestazione artificiale di un substrato torboso con un isolato rappresentativo di *F. oxysporum* f.sp. *raphani*, effettuando trattamenti preventivi in vivaio con diversi

prodotti (fosfiti, acibenzolar-S-metile e microrganismi). In presenza di una gravità della tracheofusariosi su rucola coltivata nel testimone inoculato e non trattato compresa tra il 56,1 e 62,9%, quando sono stati effettuati almeno quattro trattamenti in condizione di vivaio con i diversi prodotti, il miglior risultato di contenimento della tracheofusariosi della rucola è stato fornito dai fosfiti (56,8%-65% di efficacia), seguito da acibenzolar-S-metile (54-57,5%) con valori statisticamente simili a quelli forniti da azoxystrobin, applicato al trapianto come riferimento chimico, che ha mostrato un'efficacia del 56,3% (Figura 3). In generale, i quattro trattamenti eseguiti con *B. subtilis*, *B. velezensis*, *Trichoderma asperellum* + *T. gamsii* e con il complesso microbico *Glomus* spp. + *Bacillus megaterium* + *Trichoderma* sp, hanno significativamente ridotto la malattia, rispetto al testimone non trattato (42,7%, 42,3%, 34,5%, 46,7% di efficacia, rispettivamente), seppur fornendo un contenimento parziale (Figura 3). In generale, non si sono registrate differenze significative nel peso fresco delle piante alla raccolta (Figura 3). Il contenimento della tracheofusariosi fornito dai diversi prodotti è risultato generalmente simile per le cultivar di rucola selvatica (cvs Grazia, Giove e Luna) impiegate nelle prove anche se dotate di diversa suscettibilità al patogeno (Figura 4). Particolarmente interessante è stato l'effetto fornito dall'ammendante compostato verde soprattutto quando applicato in miscela al substrato di coltivazione in alveolo, con riduzioni della gravità dei sintomi dal 70,9 al 90,6% sulla cv Grazia, mediamente tollerante alla tracheofusariosi, dal 70 al 76% sulla cv Giove, mediamente suscettibile al patogeno e sulla cv Luna, suscettibile al patogeno, dal 70 all'86%, mostrando risultati statisticamente simili a quelli ottenuti con un'applicazione di azoxystrobin (Figura 4).

Tracheofusariosi del pomodoro

La tracheofusariosi, causata da *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, è una grave malattia del pomodoro che può colpire le piante sia in coltura protetta sia in pieno campo, in qualsiasi stadio vegetativo. Il *F. oxysporum*, come molti altri *Fusarium*, può sopravvivere a lungo nel

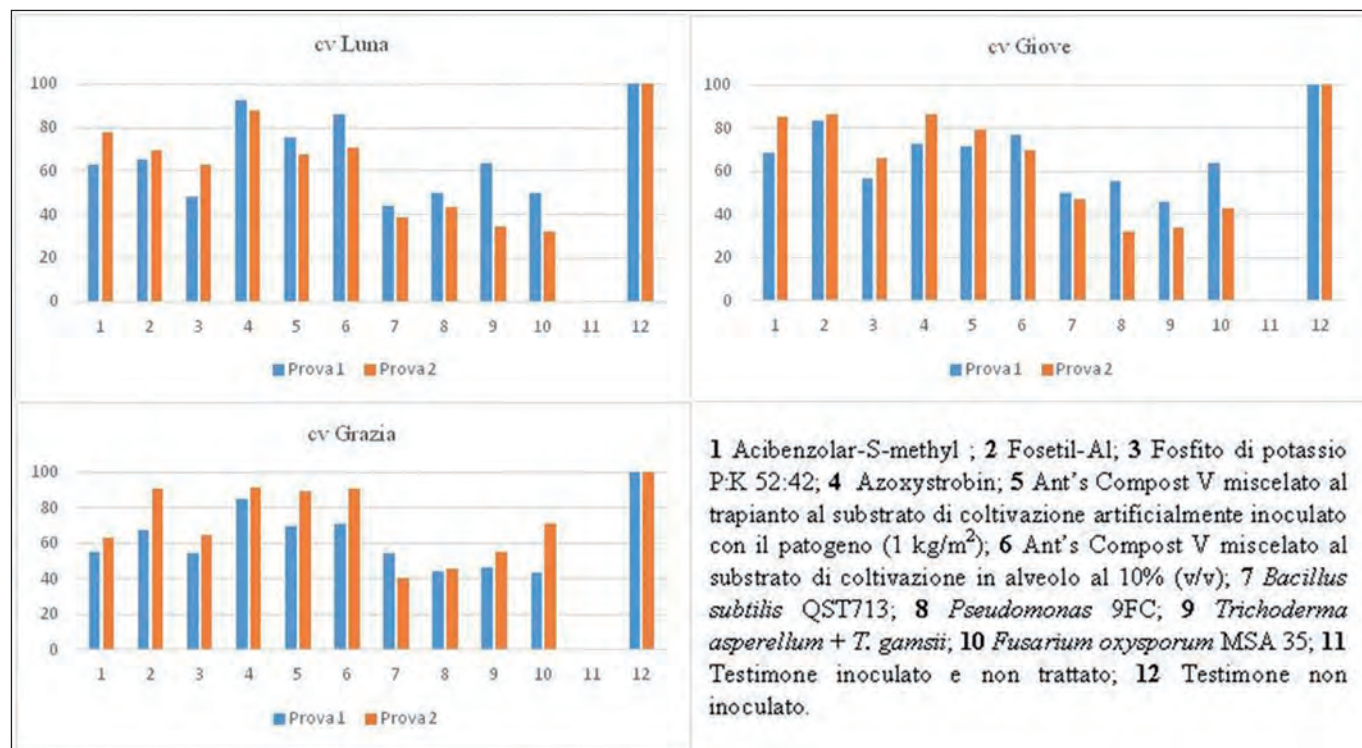


Figura 4 - Effetto di diversi trattamenti in condizione di vivaio nei confronti della tracheofusariosi della rucola selvatica (cvs Grazia, Luna e Giove) in un terreno artificialmente inoculato con *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*. I dati sono espressi come % di riduzione della gravità dei sintomi rispetto al testimone nel corso di due prove/cultivar.

Figure 4 - Effect of nursery treatments on *Fusarium* wilt on cvs. Grazia, Luna and Giove grown in a peat substrate artificially infested with *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*. Data are expressed as disease severity reduction at the end of two trials/cultivar.

terreno dove può conservarsi vitale per diversi anni grazie ai suoi organi di resistenza, le clamidospore. La diffusione del patogeno è favorita dall'utilizzo di sementi o materiale propagativo infetto (Jones, 1991). Anche in questo caso la difesa del pomodoro dalla tracheofusariosi è solo di tipo preventivo e attualmente si basa sull'utilizzo di interventi agronomici tra cui l'impiego dell'innesto o la scelta di cultivar resistenti alle tre razze note del patogeno (Reis *et al.*, 2004) e sull'impiego di trattamenti fumiganti. Tuttavia, il ricorso a queste misure presenta crescenti limitazioni, sia in seguito alle forti restrizioni all'impiego dei fumiganti sia per le frequenti complicazioni tecniche dell'impiego dell'innesto. L'attività di miglioramento genetico, inoltre, richiede molto tempo per essere trasferita nella pratica, con risultati talvolta parziali poiché molti patogeni si adattano rapidamente, con numerosi esempi in cui la resistenza basata su geni di resistenza introdotti è stata superata nel corso di pochi anni se non combinata con altre misure di lotta. Inoltre, generalmente gli ibridi intespecifici *Solanum lycopersicum* × *Solanum hirsutum*, impiegati come portainnesti resistenti alle tracheomicosi del pomodoro, risultano suscettibili agli attacchi di patogeni tellurici in passato considerati minori, tra i quali *Colletotrichum coccodes*, *Phytophthora nicotianae*, *P. capsici*, *Scerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* (Garibaldi *et al.*, 2014). Nel caso di questa tracheofusariosi, grande interesse è rivolto all'impiego di substrati repressivi. D'altra parte questo patogeno, in passato, non aveva causato gravi problemi in alcune aree di coltivazione, grazie alla naturale repressività di alcuni terreni nei confronti degli agenti di tracheofusariosi (Garibaldi e Gullino, 1998). Inoltre, diversi studi hanno evidenziato il positivo effetto dell'uso di ammendanti per il

contenimento della tracheofusariosi del pomodoro (Borrero *et al.*, 2004). Nel corso di diverse prove da noi svolte in condizioni controllate in serra è stato valutato l'impiego di un ammendante compostato verde (Ant's Compost V) miscelato al 10% al substrato torboso impiegato per allestire i contenitori alveolati utilizzati in vivaio per propagare il pomodoro o miscelando l'ammendante compostato al substrato torboso di coltivazione in vaso (15 litri di capacità) immediatamente prima del trapianto e dell'infestazione del substrato con le clamidospore del patogeno (5×10^4 clamidospore/ml). Per queste prove veniva impiegata la cv Cuore di bue, molto apprezzata dal consumatore, ma molto suscettibile all'agente di tracheofusariosi. Tra i prodotti saggiati, venivano anche utilizzati, sempre in condizione di vivaio, quattro trattamenti ad intervallo di 7 giorni, con microrganismi e con sali a partire dalle prime foglie vere. In presenza di una elevata pressione di malattia il compost verde (Ant's Compost V) e il compostato misto (Ant's Compost B) hanno ridotto in modo significativo gli attacchi del patogeno (65 a 80% di riduzione) con un generale miglior effetto dell'applicazione in pre-trapianto. Parziale è risultata l'efficacia dei microrganismi impiegati, mentre il fosfito di potassio ha ridotto gli attacchi del patogeno dal 61 all'86% (Figura 5).

Conclusioni

In questa nota si è cercato di evidenziare le potenzialità di trattamenti preventivi effettuati in vivaio con diversi prodotti (microrganismi, sali, compost...) per il contenimento delle tracheofusariosi di lattuga, rucola e pomodoro, presentando i risultati di ricerche condotte presso Agroinnova svolte per mettere a punto metodi di applicazione che prevedano

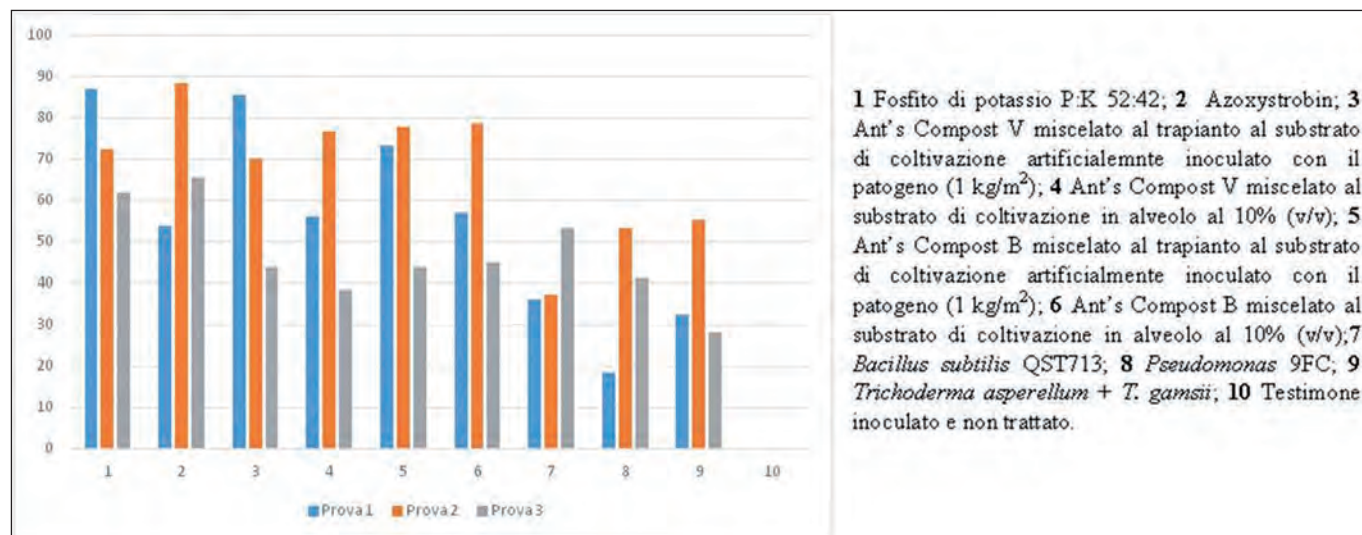


Figura 5 - Effetto di diversi trattamenti in condizione di vivaio nei confronti della tracheofusariosi del pomodoro cv Cuore di bue in terreno artificialmente infestato con *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. I dati sono espressi come % di riduzione della gravità dei sintomi nel corso di tre prove svolte in serra in presenza di una gravità degli attacchi del patogeno nel testimone inoculato e non trattato compresa tra 45,3 a 66,8% di piante colpite.

Figure 5 - Effect of nursery treatments on *Fusarium wilt* of tomato cv. Cuore di bue grown in a peat substrate artificially infested with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Data are expressed as disease severity reduction at the end of three greenhouse trials with disease severity in the untreated control from 45.3 to 66.8% of affected plants.

interventi preventivi su giovani piante.

Da quanto emerso dalla nostra esperienza, l'applicazione di prodotti di sintesi (acibenzolar S-metile e fosfiti) o microbiologici (in particolare alcune specie di *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Trichoderma* e di un *Fusarium oxysporum* antagonista), o l'induzione della repressività nel substrato di coltivazione, ad esempio utilizzando compost di qualità in trattamenti preventivi in vivaio, sono metodi relativamente semplici e poco costosi che offrono l'opportunità di ridurre il numero dei trattamenti successivi in campo con agrofarmaci, con una conseguente riduzione dei rischi ambientali e dei residui al momento della raccolta. Infatti, diversi studi hanno evidenziato come ad esempio all'uso preventivo di rizobatteri (*Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.) sia spesso collegata una risposta immunitaria della pianta a lunga durata (Durrant e Dong, 2004), rappresentando una utile opportunità di limitare il numero delle applicazioni dei fungicidi in campo.

L'impiego in trattamenti preventivi e la frequenza di applicazione di questi trattamenti rappresentano, comunque, un fattore in grado di influenzarne l'efficacia in modo significativo, come evidenziato nel caso dei fosfiti e dell'acibenzolar-S-metile, in diversi patosistemi (Guest e Bompeix, 1990; Huang *et al.*, 2012; Worrall *et al.*, 2012; Gómez-Merino e Trejo-Téllez, 2015).

Da quanto emerso nel corso di prove svolte in condizioni controllate, i fosfiti impiegati in vivaio hanno contenuto significativamente le tracheofusariosi di lattuga, rucola e pomodoro. Numerosi studi hanno dimostrato l'importanza del fosfito anche in applicazioni in campo, da soli o combinati con agrofarmaci, evidenziando frequentemente l'effetto additivo della protezione ottenuta nei confronti di vari agenti patogeni che causano malattie nelle solanacee, con positivi effetti in termini di riduzione del numero di trattamenti con fungicidi e con la possibilità di impiego in strategie anti-resistenza, assumendo un interessante ruolo in programmi di difesa integrata (Coffey e Joseph, 1985; Smillie *et al.*, 1989; Guest e Bompeix, 1990; Walters *et al.*,

2009; Alexandersoon *et al.*, 2016). In questa prospettiva, ad esempio è noto da tempo l'effetto dei fosfiti nei confronti della peronospora della lattuga e del pomodoro (Guest e Bompeix, 1990). Inoltre, di particolare interesse è l'effetto dei fosfiti nei confronti di patogeni di recente comparsa in sistemi colturali intensivi, soprattutto su colture minori, come nel caso di *Plectosphaerella cucumerina* su rucola selvatica o di *Peronospora belbahrii* su basilico (Gilardi *et al.*, 2015). Tuttavia l'effetto di questi prodotti è influenzata dal tipo di formulazione, dalla tempistica di impiego, dal numero dei trattamenti e dalla dose di applicazione.

L'inclusione di sali inorganici nei programmi di difesa dalle malattie fungine di diverse specie orticole e ornamentali merita certamente maggiore considerazione anche a livello normativo. In Europa, i fosfiti sono registrati come agrofarmaci su un numero limitato di colture, tra cui la vite, mentre, su diverse specie orticole essi sono utilizzati come fertilizzanti. Attualmente l'Unione Europea considera i residui massimi ammessi per i fosfiti facendo riferimento ai Limiti Massimi di Residui (LMR) fissati per il fosetil-Al, che nel caso di patata e pomodoro sono rispettivamente 30 e 100 mg/kg. Di conseguenza, colture su cui vengono utilizzati composti contenenti fosfiti, come fungicidi o fertilizzanti, sono ora a rischio di non conformità (EFSA, 2014). Pertanto le applicazioni preventive in vivaio potrebbero risolvere il problema dei residui di questi prodotti anche in colture a ciclo breve come sono gli ortaggi a foglia.

Anche lo sfruttamento di fenomeni di repressività del terreno e dei substrati a infezioni di parassiti tellurici rappresenta una possibile strategia applicabile su numerose colture. A tal proposito il compost, tradizionalmente utilizzato come ammendante per migliorare lo stato di nutrizione delle piante e la struttura del suolo, può essere utilizzato anche come substrato di arricchimento della torba in vivaio. Questo aspetto ha importanti implicazioni pratiche in quanto il compost di qualità potrebbe sostituire, almeno parzialmente, substrati non rinnovabili, come la torba, essendo reperibile localmente e facilmente miscelabile

ai substrati di coltivazione in vivaio (Barret *et al.*, 2016). L'effetto repressivo del compost nei confronti di numerosi oomiceti consente, inoltre, di gestire in modo completo la difesa delle colture orticole oltre che dalle tracheofusariosi anche da patogeni tellurici quali *Pythium* che risultano critici in vivaio e che talvolta possono essere introdotti proprio con i substrati di coltivazione torbosi (Roberson, 1972).

Di sicuro interesse è la possibilità di impostare già in vivaio un programma di difesa integrata combinando ad esempio trattamenti su giovani piante con l'uso di cultivar tolleranti. Tuttavia, è necessario considerare che diverse cultivar possono variare nell'intensità della loro risposta allo stesso induttore di resistenza, come dimostrato nel caso della lattuga e di altre specie (Maisonneuve *et al.*, 2013). I programmi di miglioramento genetico dovranno meglio considerare nel prossimo futuro la possibilità di questa combinazione. Pensando a possibili strategie di lotta integrata è inoltre emerso un miglioramento dell'effetto di protezione fornita da microrganismi, anche in applicazioni di campo o in fuorisuolo, quando combinati con un induttore di resistenza (Yi *et al.*, 2013; Alexandersoon *et al.*, 2016).

Quanto emerso dagli studi condotti in presenza di inoculazione artificiale degli agenti di tracheofusariosi di lattuga, rucola e pomodoro i trattamenti eseguiti a partire dalle condizioni di vivaio utilizzando diversi prodotti e microrganismi che sfruttano i meccanismi di induzione di resistenza hanno mostrato un promettente effetto nel contenimento di questi agenti. Inoltre, l'induzione di resistenza nei confronti dei patogeni fungini o batterici può essere acquisita in modo sistemico, risultando in genere efficace nei confronti di un ampio spettro di patogeni. Nel caso, ad esempio, del pomodoro l'impiego di silicati ha la potenzialità di indurre la resistenza nella pianta nei confronti di patogeni della parte epigea delle piante tra cui *Oidium neolycopersici* (Worrall *et al.*, 2012) e *Botrytis cinerea* (Luna *et al.*, 2016) e radicali tra cui *Phytophthora nicotianae* (Gilardi *et al.*, 2014 b). L'induzione di resistenza nell'ospite può anche essere attivata dall'interazione tra l'apparato radicale delle piante con microorganismi del suolo, come ad esempio rizobatteri e diverse specie di *Bacillus* sp. (*B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. pasteurii*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. mycoides*, and *B. sphaericus* (Pieterse *et al.*, 2009; Gond *et al.*, 2015). Dagli studi da noi condotti è emerso un effetto significativo, seppur parziale in termini di efficacia, dell'impiego di almeno tre trattamenti a base di microrganismi fungini (*Trichoderma* e *F. oxysporum*) e batterici (*Pseudomonas* sp. e *Bacillus* sp.) in vivaio nei confronti di agenti di tracheofusariosi, rappresentando questa una via percorribile per ottimizzarne l'uso, riducendo ad esempio la variabilità delle applicazioni realizzate presso le aziende agricole, uno dei fattori che spesso ne complicano l'impiego pratico. Questo approccio, oltre a garantire una migliore uniformità dei trattamenti che richiedono preferibilmente applicazioni preventive, permette di trasferire nella pratica l'uso dei microrganismi antagonisti più promettenti a seconda della coltura. Numerosi esempi hanno, infatti, evidenziato le potenzialità di diversi microrganismi antagonisti nei confronti delle tracheomicosi in specifici patosistemi (Eljounaidi *et al.*, 2016). La ricchezza in microrganismi di alcuni compost potrebbe essere tra i fattori implicati nella repressività

indotta da questi ammendanti nei confronti di agenti di tracheomicosi (Yogev *et al.*, 2010; Antoniou *et al.*, 2017). Molti dei prodotti impiegati in trattamenti di vivaio sono noti induttori di resistenza sistemica, e rappresentano un'interessante prospettiva per la difesa delle colture orticole dai patogeni tellurici e fogliari anche se sono raramente utilizzati nelle pratiche agricole attuali. Diverse possono essere le ragioni di questa situazione. In primo luogo, l'impiego di prodotti che sfruttano i meccanismi di induzione di resistenza nell'ospite forniscono raramente una completa efficacia di contenimento dei patogeni; tipicamente, ad esempio, la resistenza indotta rallenta la progressione della malattia, anziché eliminarla (Walters *et al.*, 2013). In secondo luogo, le sostanze chimiche che inducono la resistenza, tra cui ad esempio l'acibenzolar-S-metile, possono avere, talvolta, effetti collaterali negativi sulla crescita delle piante e sulla produzione di sementi, soprattutto quando applicati in concentrazioni più elevate (Sonnemann *et al.*, 2002; van Hulten *et al.*, 2006; Walters e Heil, 2007).

Gli esempi riportati evidenziano la complessità dei problemi causati dalle tracheofusariosi e la necessità di una continua evoluzione delle strategie di difesa, con particolare riferimento al possibile trasferimento nella pratica, rispondendo a quelle che sono le esigenze del settore produttivo, come evidenziato anche in una recente rassegna da Katan (2017). Emerge inoltre l'importanza di rivedere la normativa in vigore, con limitazioni all'uso di alcuni prodotti quali i fosfiti, in stretta collaborazione con i vari soggetti interessati.

Ringraziamenti

Lavoro svolto con un contributo del progetto EUCLID EU-CHINA Lever for IPM Demonstration, nell'ambito del bando Europeo Horizon 2020, Contratto N. 633999. Il lavoro sarà presentato durante i 35^{mi} Incontri Fitoiatrici, il 18 aprile 2018 a Torino.

Riassunto

La lotta alle tracheofusariosi, così come per molte altre malattie causate da funghi terricoli, è al momento attuale difficile e assai costosa e va soprattutto impostata sull'adozione di misure preventive efficaci e su limitati interventi di lotta diretta. Nella presente nota sono riportati alcuni esempi di difesa dalle tracheofusariosi di lattuga, rucola e pomodoro utilizzando prodotti noti per l'induzione di resistenza, microrganismi e ammendanti compostati applicati in trattamenti in vivaio. Vengono presentati i risultati ottenuti e discusse criticamente le opportunità di impiego in strategie di lotta integrata.

Parole chiave: *Fusarium oxysporum*; tecniche colturali; induzione di resistenza; mezzi biologici di lotta; compost, lotta genetica; lotta integrata.

Summary

Nursery treatments to control Fusarium wilts

The management of Fusarium wilts is at present difficult, expensive and complicated by the presence of few effective registered chemicals. It is based on the adoption of preventative measures and on the limited use of control methods. In the present work some examples of management based on the use of resistance inducers, microorganisms

and compost, applied in nursery as preventative treatments against fusarium wilts of lettuce, rocket and tomato, are reported. Results are presented and the opportunities for use under integrated pest management strategies are critically discussed.

Keywords: *Fusarium oxysporum*; cultural practices; resistant inducers; biocontrol agents; compost; genetic control; integrated disease management.

Lavori citati

Amein T., Wright S. A. I., Wikström M., Koch E., Schmitt A., Stephan D., Tinivella F., Gullino M. L., Forsberg G., Jan Werner S., van der Wolf J., Groot S. P. C. (2011) - Evaluation of non-chemical seed treatment methods for control of *Alternaria brassicicola* on cabbage seeds. *Journal of Plant Disease and Protection*, 118, 214–221.

Alexandersson E., Mulugeta T., Lankinen A., Liljerot E., Andersson E. (2016) - Plant resistance inducers against pathogens in *Solanaceae* species-from molecular mechanisms to field application. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1-25.

Antoniou A., Tsolakidou M. D., Stringlis I. A., Pantelides I. S. (2017) - Rhizosphere Microbiome Recruited from a Suppressive Compost Improves Plant Fitness e Increases Protection against Vascular Wilt Pathogens of Tomato. *Frontiers in Plant Science*, 29 November 2017 <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02022>

Babalola O. O. (2010) - Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology Letters*, 32, 1559-1570.

Barrett G. E., Alexander P. D., Robinson J. S., Bragg N. C. (2016) - Achieving environmentally sustainable growing media for soilless plant cultivation systems – A review. *Scientia Horticulturae*, 212, 220–234.

Bonanomi G., Antignani V., Pane C., Scala F. (2007) - Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *Journal of Plant Pathology*, 89, 311-324.

Borrero C., Trillas M. I., Ordovas J., Tello J. C., Aviles M. (2004) - Predictive factors for the suppression of *Fusarium* wilt of tomato in plant growth media. *Phytopathology*, 94, 1094-1101.

Bouhmouch I., Souad-Mouhsine B., Brhada F., Aurag J. (2005) - Influence of host cultivars and *Rhizobium* species on the growth and symbiotic performance of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. *Journal Plant Physiology*, 162, 1103–1113.

Clematis F., Minuto A., Gullino M. L., Garibaldi A. (2008) - Induced suppressiveness to *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* in perlite and perlite-peat substrates in closed soilless systems. *Phytoparasitica*, 35, 77-85.

Coffey M. D., Joseph M. C. (1985) - Effects of phosphorous acid and fosetyl-Al on the life cycle of *Phytophthora cinnamomi* and *Phytophthora citricola*. *Phytopathology*, 75, 1042-1046.

Colla P., Gilardi G., Gullino M. L. (2012) - A review and critical analysis of the European situation of soilborne disease management in the vegetable sector. *Phytoparasitica*, 40, 515-523.

Da Rocha A. B., Hammerschmidt R. (2005) - History and perspectives on the use of disease resistance inducers in horticultural crops. *HortTechnology*, 15, 518-529.

Datnoff L. E., Elmer W. H., Huber D. M. (2007) - Mineral nutrition and plant disease. APS Press, St Paul, MN, 278 pp..

Deliopoulos T., Kettlewell P. S., Hare M. C. (2010) - Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. *Crop Protection*, 29, 1059–1075.

Durrant W. E., Dong X. (2004) - Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 42, 185-209.

EFSA (2014) - Statement on the dietary risk assessment for proposed temporary maximum residue levels (t-MRLs) for fosetyl-Al in certain crops. *EFSA Journal*, 12, 1–22. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3695>.

Egamberdieva D., Berg G., Lindström K., Räsänen L. A. (2013) - Alleviation of salt stress of symbiotic *Galega officinalis* L. (goat's rue) by co-inoculation of rhizobium with root colonising *Pseudomonas*. *Plant Soil*, 369, 453–465.

Eljounaidi K., Lee S. K., Bae H. (2016) - Bacterial endophytes as potential biocontrol agents of vascular wilt diseases-review and future prospects. *Biological Control*, 103, 62–68.

Fravel, D., Olivian, C., Alabouvette, C. (2003) - *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist Journal*, 157, 493-502.

Gamliel A., Katan J. (1993) - Suppression of major and minor pathogens by fluorescent pseudomonads in solarized and nonsolarized soils. *Phytopathology* 83, 68-75.

Garibaldi A., Gilardi G., Cogliati E. E., Gullino M. L. (2011) - Silicon and increased electrical conductivity reduce downy mildew of soilless grown lettuce. *European Journal of Plant Pathology*, 132, 123-132.

Garibaldi A., Gilardi G., Gullino M. L. (2014) - Critical Aspect in disease management as a consequence of the evolution of soil-borne pathogens. *Acta Horticulturae*, 1044, 43-52.

Garibaldi A., Gullino M. L. (1988) - La lotta integrata contro le malattie fungine delle piante ortensi in coltura protetta. *Informatore Fitopatologico*, 38(11), 13-20.

Garibaldi A., Minuto A., Grasso V., Gullino M. L. (2003) - Application of selected antagonistic strains against *Phytophthora cryptogea* on gerbera in closed soilless systems with disinfection by slow sand filtration. *Crop Protection*, 22, 1053–1061.

Gilardi G., Demarchi S., Gullino M. L., Garibaldi A. (2014 a) - Varietal resistance to control *Fusarium* wilts of leafy vegetables under greenhouse. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 79 (2), 21-27.

Gilardi G., Demarchi S., Gullino M. L., Garibaldi A. (2014 b) - Managing *Phytophthora* crown and root rot on tomato by pre-plant treatments with biocontrol agents, resistance inducers, organic and mineral fertilizers under nursery conditions. *Phytopathologia Mediterranea*, 53, 2, 205–215.

Gilardi G., Demarchi S., Gullino M. L., Garibaldi A. (2016 a) - Evaluation of the short term effect of nursery treatments with phosphite-based products, acibenzolar-S-methyl, pelleted *Brassica carinata* and biocontrol agents, against lettuce and cultivated rocket fusarium wilt under artificial inoculation and greenhouse conditions. *Crop Protection*, 85, 23-32.

Gilardi G., Demarchi S., Ramon I., Gullino M. L., Garibaldi A. (2015) - Pre-planting treatments with phosphite-based products against different foliar and soil-borne pathogens of vegetable crops. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 80, 445-51.

Gilardi G., Franco-Ortega S., van Rijswijk P., Ortu G., Gullino M. L., Garibaldi A. (2017 b) - A new race of

- Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* of lettuce. Plant Pathology, 66, 677–688.
- Gilardi G., Gullino M. L., Garibaldi A. (2007) - Effect of Antagonistic *Fusarium* spp. and of Different Commercial Biofungicide Formulations on *Fusarium* Wilt of Lettuce. Phytoparasitica, 35, 457-465.
- Gilardi G., Moizio M., Martano G., Gullino M. L., Garibaldi A. (2014 c) - Induzione di repressività a patogeni tellurici del pomodoro allevato in fuori-suolo. Protezione delle colture, 2 (2), 32-35.
- Gilardi G., Pugliese M., Gullino M. L., Garibaldi A. (2016 b) - Effect of different organic amendments on lettuce fusarium wilt and on selected soil-borne microorganisms. Plant Pathology, 65, 704–712.
- Gilardi G., Pons C., Gard B., Franco-Ortega S., Gullino M. L. (2017 a) - Presence of *Fusarium* wilt, incited by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*, on lettuce in France. Plant Disease, 101, 1053.
- Gómez-Merino F.C., Trejo-Téllez L.I. (2015) - Biostimulant activity of phosphite in horticulture. Scientia Horticulturae, 196, 82–90.
- Gond S. K., Bergen M. S., Torres M. S., White J. F. Jr. (2015) - Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize. Microbiological Research, 172, 79–87.
- Guest D. I., Bompeix G. (1990) - The complex mode of action of phosphonates. Australasian Plant Pathology, 19, 113–115.
- Gullino M. L., Gilardi G., Garibaldi A. (2004) - New *Fusarium* wilts on vegetable crops in Italy. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 69, 405–413.
- Gullino M. L., Gilardi G., Garibaldi A. (2014 a) - Seed-borne pathogens of leafy vegetable crops. In: Global perspectives on the health of seeds and plant propagation material (Gullino M. L., Munkvold G. Coord.), Springer, Dordrecht, The Netherlands, 47-53.
- Gullino M. L., Gilardi G., Garibaldi A. (2014 b) - Chemical and Non Chemical Seed Dressing for Leafy Vegetable Crops. In: Global perspectives on the health of seeds and plant propagation material (Gullino M. L., Munkvold G. Coord.), Springer, Dordrecht, The Netherlands, 125-136.
- Gullino M. L., Pugliese M., Garibaldi A. (2015) - Use of silicon amendments against foliar and vascular diseases of vegetables grown soilless. In: Sustainable crop disease management using natural products (Sangeetha G. Kuruchev V. Jayaraj J. coord.), Delémont, Cabi, 293-306.
- Hashem M., Moharam A.M., Zaid A., Saleh F. E. M. (2010) - Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp.. Crop Protection, 29, 1111-1117.
- Hass D., Defago G. (2005) - Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent *Pseudomonads*. Nature Reviews Microbiology, 3, 307-319.
- Hoitink H. A. J., Fahy P. C. (1986) – Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. Annual Review of Phytopathology, 24, 93-114.
- Hoitink H. A. J., Locke J. C. (2012) - An integrated approach to biological control of *Fusarium* species in containerized crops. In: *Fusarium* wilts of greenhouse vegetable and ornamental crops (Gullino M.L., Katan J., Garibaldi A., coord.), APS Press, St. Paul, M.N, USA, 109-115.
- Huang C.-H., Vallad G. E., Zhang S., Wen A., Balogh B., Figueiredo J. F. L., Behlau F., Jones J. B., Momol M. T., Olson S. M. (2012) - Effect of application frequency and reduced rates of acibenzolar-S-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato. Plant Disease, 96, 221–227.
- Jones J. P. (1991) - *Fusarium* wilt. In: Compendium of Tomato Diseases. Saint Paul, Minnesota, APS PRESS.
- Katan J. (2017) - Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. Journal of Plant Pathology, 99, 305-315.
- Kessmann H., Staub T., Maetzke C., Herzog J., Ward E., Uknes S., Ryals J. (1994) - Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. Annual Review of Phytopathology, 32, 439-459.
- Kloepper J. W., Leong J., Teintze M., Schroth M. N. (1980) - Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. Nature, 268, 885-886.
- Lobato M. C., Olivier F. P., González Altamiranda E. A., Wolski E. A., Daleo G. R., Caldiz D. O., Andreu A. B. (2008) - Phosphite compounds reduce disease severity in potato seed tubers and foliage. European Journal of Plant Pathology, 122, 349-358.
- Lobato M. C., Olivieri F. P., Daleo G. R., Andreu A. B. (2010) - Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. Journal of Plant Disease and Protection, 117, 102-109.
- Lopez-Reyes G. G., Gilardi G., Garibaldi A., Gullino M. L. (2014) - Efficacy of bacterial and fungal biocontrol agents as seed treatments against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* on lettuce. Journal of Plant Pathology, 96, 535-539.
- Luna R., Beardson S., Ravnskov S. (2016) - Optimizing Chemically Induced Resistance in Tomato Against *Botrytis cinerea*. Plant Disease, 100, 704-710.
- Maisonneuve B., Allen-Aubouard C., Pitrat M. (2013) - Effect of plant genotype on the efficacy of stimulators of plant defences in two horticultural pathosystems. IOBC-WPRS Bull, 89, 327–331.
- Mandal S., Mallick N., Mitra A. (2009) - Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato. Plant Physiology and Biochemistry, 47, 642-649.
- Matheron M., Gullino, M. L. (2012) - *Fusarium* wilt of lettuce and other salad crops. In: *Fusarium* wilt of greenhouse vegetable and ornamental crops (Gullino M. L., Katan J., Garibaldi A. coord), APS Press, St. Paul, MN, USA, 175-185.
- Mayak S., Tirosch T., Glick M. (2004) - Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Science, 166, 525–530.
- Oostendorp M., Kunz W., Dietrich B., Staub T. (2001) - Induced disease resistance in plants by chemicals. European Journal Plant Pathology, 107, 19–28.
- Quimette D. G., Coffey M.D. (1990) - Symplastic entry and phloem translocation of phosphonate. Pesticide Biochemistry and Physiology, 38, 18–25.
- Pawar V., Thaker V. (2007) - Evaluation of the anti-*Fusarium oxysporum* f. sp. *cicer* and anti-*Alternaria porri* effects of some essential oils. World Journal of Microbiology and Biotechnology 23, 1099-106.
- Pe´rez-Piqueres A., Edel-Hermann V., Alabouvette C., Steinberg C. (2006) - Response of soil microbial communities to compost amendments. Soil Biology and Biochemistry, 38, 460–470.
- Pieterse C. M. J., Leon-Reyes A., Van der Ent S., Van Wees

- S. C. M. (2009) - Networking by small molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology*, 5, 308–316.
- Postma J. (2010) - The Status of Biological Control of Plant Diseases in Soilless Cultivation. In: *Recent Developments in Management of Plant Diseases* (Gisi U., Chet I., Gullino M.L. coord.), Springer, Dordrecht, The Netherlands, 133–146.
- Postma J., Schilder M. T., Bloem J., van Leeuwen-Haagsma W. K. (2008) - Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in organic farming systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2394–2406.
- Pugliese M., Gilardi G., Garibaldi A., Gullino M. L. (2015) - Organic Amendments and Soil Suppressiveness: Results with Vegetable and Ornamental Crops. In: *Organic Amendments and Soil Suppressiveness in Plant Disease Management* (Meghvansi M. K., Varma A. coord.), Springer, Dordrecht, The Netherlands, 495–509.
- Pugliese M., Gilardi G., Gullino M. L., Garibaldi A. (2006) - La capacità repressiva di compost nei confronti della tracheofusariosi del basilico. *Informatore Fitopatologico – La Difesa delle Piante*, 56 (12), 44–47.
- Pugliese M., Liu B. P., Gullino M. L., Garibaldi A. (2008) - Selection of antagonists from compost to control soil-borne pathogens. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 115, 220–228.
- Raaijmakers J.M., Paulitz T.C., Steinberg C., Alabouvette C., Moenne-Loccoz Y. (2009) - The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil*, 321, 341–361.
- Reis A., Giordano L. B., Lopes C. A., Boiteux L. S. (2004) - Novel sources of multiple resistance to three races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in *Lycopersicon* germplasm. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 4, 495–502.
- Roberson G. I. (1972) - Occurrence of *Pythium* spp. in New Zealand soils, sands, pumices, and peat, and on roots of container-grown plants. *N.Z. Journal of Agricultural Research*, 16, 357–365.
- Ronaldo C., Gaskin R. E., Gous F., Horgan D. H., Raymond L. G. (2017) - The effect of formulation, dose and adjuvants on uptake of phosphite into pine foliage. *Plant Disease*, 101, 1652–1658.
- Schmitt A., Jahn M., Krauthausen H. -J., Forsberg G., Werner S., Amein T., Wright S. A. I., Tinivella F., van der Wolf J. S. P. (2009) - Evaluation of non-chemical seed treatment methods for the control of *Phoma valerianellae* on lamb's lettuce seeds. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 116, 200–7.
- Sharaf E. F., Farrag A. A. (2004) - Induced resistance in tomato plants by IAA against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Polish Journal of Microbiology*, 53, 111–116.
- Smillie R., Grant B. R., Guest D. (1989) - The mode of action of phosphite; evidences for both direct and indirect action modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. *Phytopathology*, 79, 921–926.
- Sonnemann I., Finkhaeuser K., Walters V. (2002) - Does induced resistance in plants affect the belowground community? *Applied Soil Ecology*, 21, 179–185.
- Srinivasan K., Gilardi G., Garibaldi A., Gullino M. L. (2009) - Efficacy of bacterial antagonists and different commercial products against *Fusarium* wilt on rocket. *Phytoparasitica*, 37, 179–188.
- Srinivasan K., Spadaro D., Poli A., Gilardi G., Gullino M. L., Garibaldi A. (2012) - Genetic diversity and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* isolated from wilted rocket plants in Italy. *Phytoparasitica*, 40, 157–170.
- Sticher L., Mauch-Mani B., Metraux J. P. (1997) - Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 35, 235–70.
- van Bruggen A. H. C., Semenov A. M. (2015) - Soil health and soilborne diseases in organic agriculture. In: *Plant Diseases and their Management in Organic Agriculture* (Finck H. M. R., van Bruggen A.H.C., Tamm L. coord.), APS Press, St Paul, MN, 67–89.
- van Hulten M., Pelser M., Van Loon L., Pieterse C. M. J., Ton J. (2006) - Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 5602–5607.
- Walters D. R., Fountaine J. M. (2009) - Practical application of induced resistance to plant disease: an appraisal of effectiveness under field conditions. *Journal of Agricultural Science*, 147, 523–535.
- Walters D. R., Ratsep J., Havis N. D. (2013) - Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. *Journal of Experimental Botany*, 64, 1263–1280.
- Worrall D., Holroyd G. H., Moore J. P., Glowacz M., Croft P., Taylor J. E., Paul N. D., Roberts M. R. (2012) - Treating seeds with activators of plant defence generates long-lasting priming of resistance to pests and pathogens. *New Phytologist Journal*, 193, 770–778.
- Yi H. S., Yang J. W., Ryu C. M. (2013) - ISR meets SAR outside: additive action of the endophyte *Bacillus pumilus* in pepper. *Frontiers in Plant Science*, 4, 122.